

UNTERSUCHUNG DER MORPHOLOGISCHEN
VARIABILITÄT VON PITYROSPOREN
AUF VERSCHIEDENEN NÄHRBÖDEN

Imre Mohos

1986

Diss
München



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554815_0110

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität
München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Untersuchung der morphologischen
Variabilität von Pityrosporen
auf verschiedenen Nährböden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig-Maximilians Universität zu München

vorgelegt von
Imre Mohos
aus
Keszthely
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Februar 1986

Herrn Privatdozent Dr. med. M. Dorn danke ich für die großzügige Hilfe und Beratung bei der Anfertigung der Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei den Assistentinnen im Mykologischen Labor der Dermatologischen Klinik für die freundliche Unterstützung bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Frau Margaret für die Mithilfe bei der Auswertung der mikroskopischen Aufnahmen.

Inhalt:

	Seite
Einleitung	1
Historischer Überblick	3
Vorkommen und Bedeutung von Pityrospora	5
Pityriasis versicolor	8
Zielsetzung der eigenen Untersuchungen	11
Material und Methode Teststämme	13
Mikroskopische Sproßzellmorphologie	15
Kulturelle Methode	17
Modifizierte PAS-Färbung nach Haley-Stanford	19
Ergebnisse	20
Diskussion	31
Literaturverzeichnis	38

Einleitung

Pityriasis versicolor ist eine bei Jugendlichen häufig vorkommende Pilzinfektion der Haut, die klinisch durch oberflächliche, scharf begrenzte bräunliche, fleckförmige, kleiförmig schuppende Verfärbung der Haut gekennzeichnet ist.

Ursächlicher Erreger ist der Pilz *Malassezia furfur*, der in Läsionen mikroskopisch leicht nachgewiesen werden kann. Charakteristischerweise sieht man sogenannte Sporenhaufen und Pilzfäden. Dieser direkte mikroskopische Befund ist diagnostisch.

Alle Versuche, den Erreger zu kultivieren, verliefen über Jahrzehnte negativ. Bereits 1848 hat man erkannt, daß der Pityriasis versicolor eine Pilzinfektion zugrunde liegt, aber erst 1951 gelang es GORDON auf einem Nährboden, der mit Olivenöl überschichtet war, aus Läsionen eine lipidabhängige Hefe zu isolieren, die er *Pityrosporum orbiculare* nannte. Seine Untersuchungen sicherten zwar einen Zusammenhang zwischen *Malassezia furfur* einerseits und dem kulturellen Nachweis von *Pityrosporum orbiculare*, andererseits stellte sich jedoch später heraus, daß *Pityrosporum orbiculare* nicht nur bei Pityriasis versicolor gezüchtet werden kann, sondern ein regelmäßiger Saprophyt auf normaler menschlicher Haut ist. Der kulturelle Nachweis von *Pityrosporum orbiculare* aus Hauterscheinungen von Pityriasis versicolor hatte zudem den Nachteil, daß es nicht möglich war, die Hefe so zu kultivieren, daß sie vom Aussehen her *Malassezia furfur* völlig glich. Man fand zwar rundlich bis ovale Hefezellen, die den Sporenhaufen von *Malassezia furfur* entsprachen, jedoch keine Hyphen. Da nicht geklärt werden konnte, auf welche Weise sich der Übergang vom

saprophytären Hautbewohner *Pityrosporum orbiculare* in den krankmachenden Pilz *Malassezia furfur* vollzog, blieb GORDONS Annahme der Identität von *Pityrosporum orbiculare* auch in der Folgezeit hypothetisch.

Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, daß *Pityrosporum ovale*, eine andere Hefeart aus der Gattung *Pityrosporum*, gleichfalls zur normalen Mikroflora der Haut gehört.

Pityrosporum orbiculare und *Pityrosporum ovale* unterscheiden sich *in vivo* und *in vitro* hauptsächlich durch unterschiedliche Morphologie der Hefezellen, die im ersten Fall typischerweise rund, im zweiten Fall oval bis längs-oval ist.

Der kulturelle Nachweis von *Pityrosporum ovale* ist nur in Einzelfällen mit *Pityriasis versicolor* assoziiert.

Im allgemeinen wird *Pityrosporum ovale* nicht für pathogen gehalten. An gesunder und kranker Haut des Menschen kommen jedoch beide *Pityrosporenarten* gelegentlich nebeneinander vor.

Pityrosporum orbiculare und *Pityrosporum ovale* werden von einer Reihe von Untersucher nicht als selbstständige Pilzarten betrachtet, sondern als unterschiedliche Wuchsformen oder auch als Entwicklungsstadien eines einzelnen Pilzes angesehen, da auch kulturell eine gewisse Variabilität der Hefezellformen beider Hefen besteht und nicht unterscheidbare Übergangsformen vorkommen.

Ziel dieser Arbeit ist es, die morphologische Variabilität von *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* auf verschiedenen Nährböden zu bestimmen und damit Anhalt für oder gegen eine Identität beider Hefen zu gewinnen.

Historischer Überblick

EICHSTEDT hat 1846 als erster mikroskopische Pilzelemente in Hautschuppen von Pityriasis versicolor gesehen, den Pilz allerdings nicht benannt.

ROBIN als "Erstbeschreiber" nannte den Pilz 1851 Microsporon furfur und ordnete ihn zusammen mit Microsporon audouinii und Microsporon mentagrophytes in eine Pilzgattung ein. 1889 benannte jedoch der Botaniker BAILLON den Erreger der Pityriasis versicolor anders, da er im Aussehen und in der Anordnung der Sporen nicht den übrigen Pilzen der Gattung Microsporum entspreche. BAILLON schuf eine neue Gattung, die er Malassezia, mit dem einzigen Vertreter: Malassezia furfur, nannte.

Die Angaben der frühen Untersucher gründen sich auf das Erscheinungsbild der Erreger in klinischen Läsionen. Die Kultur galt als unmöglich. Zwar wurde gelegentlich über erfolgreiche kulturelle Isolationen des Erregers der Pityriasis versicolor berichtet, regelmäßig jedoch konnten solche Kulturergebnisse von anderen Untersuchern nicht bestätigt werden, sodaß es sich in der Mehrzahl der Fälle um verunreinigende Schimmelpilze gehandelt haben dürfte (GÜTZ 1962).

GORDON der 1951 als erster in neuerer Zeit ein Pilz aus Läsionen von Pityriasis versicolor isoliert und subkultiviert hatte, war selbst zurückhaltend, die von ihm entdeckte Hefe Pityrosporum orbiculare mit Malassezia furfur gleichzusetzen. Pityrosporum orbiculare ließ sich zwar morphologisch nicht von Malassezia furfur unterscheiden, aber die Hyphen und Filamente, die mikroskopisch die klinischen Läsionen kennzeichnen, fehlten in der Kultur, außerdem waren experimentelle Infektionsversuche

beim Menschen nicht erfolgreich (GORDON 1951).

Der Name "Pityriasis versicolor" ist hingegen schon lange von der Erkenntnis geprägt worden, daß es sich um ein mikrobiell bedingtes Krankheitsgeschehen handelt. Allgemein wird WILLAN (1801) als Erstbeschreiber angesehen.

Vorkommen und Bedeutung von *Pityrospora*

Natürlicher Standort für *Pityrosporum orbiculare* ist die Haut des Menschen.

Außerhalb dieses Biotops kommt die Hefe nicht vor (GEDEK 1980). *Pityrosporum ovale* ist ein bei fast allen Menschen, *Pityrosporum orbiculare* ein weniger häufig vorkommender Bestandteil der normalen Mikroflora, nicht selten kommen beide Hefen nebeneinander in Mischpopulation vor (GORDON 1951). Standort für die *Pityrospora* sind Gebiete der menschlichen Haut, die besonders talgdrüsenreich sind, vermutlich weil hier die quantitative Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide dem Nährstoffbedürfnis der Hefen entspricht (NOBLE 1981).

Einzelne Hefen können aber auch in jeder anderen Körperregion nachgewiesen werden (ROBERTS 1969). Topographisch besiedeln die Hefen die Haut in den aller obersten Zelllagen der Hornschicht, intra- und extrazellulär gelegen. Am häufigsten und zahlreichsten, fleckförmig und nicht gleichmäßig verteilt, findet man *Pityrospora* im Bereich des behaarten Kopfes und zentrofazial im Bereich der Nasenflügel, in geringerer Anzahl auch am Stamm, deutlich weniger an den Armen und der Genitalregion (MARPLES 1965). Die Hefen können bei 78 - 97 % der Normalbevölkerung mit hohen Keimzahlen an der Kopfhaut nachgewiesen werden (ACKERMAN 1969), bei den meisten Menschen auch im Ohrschmalz beziehungsweise dem äußeren Gehörgang (BROWN 1937).

Allgemein deutlich erhöhte Keimzahlen von *Pityrospora*, besonders von *Pityrosporum ovale* finden sich bei Erkrankungen aus dem seborrhoeischen Formenkreis wie dem seborr-

hoischen Ekzem oder der Akne vulgaris und bei vermehrter Kopfschuppenbildung (ROBERTS 1970). Nach heutigem Verständnis kommt *Pityrosporum ovale* keine pathogene Bedeutung bei diesen Erkrankungen zu. Die Überzeugung, daß *Pityrosporum ovale* apathogen ist, beruht vor allem darauf, daß die Hefe einerseits bei fast allen Menschen unabhängig von Krankheitserscheinungen saprophytär vorkommt, andererseits Krankheitserscheinungen nicht obligat mit der Anwesenheit der Hefe verknüpft sind (ROBERTS, MACKENZIE 1979). Experimentell lassen sich keine pathogenen Eigenschaften von *Pityrosporum ovale* demonstrieren (BENHAM 1939).

Die Bedeutung der *Pityrospora*-Besiedlung bei *Pityriasis simplex capillitii* ist derzeit noch Gegenstand der Diskussion, aufgrund der mit quantitativen Methoden durchgeführten Untersuchungen eher unwahrscheinlich (BRAUN-FALCO 1978).

Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen haben auch bei Akne vulgaris keinen Hinweis dafür gegeben, daß *Pityrospora* pathogenetische Bedeutung haben (PELWIG 1978). Bei *Pityriasis versicolor* ist die Dichte der Besiedlung mit *Pityrospora*, vorwiegend *Pityrosporum orbiculare*, größer als bei Normalpersonen (ROBERTS 1969). Klinische Erscheinungen sind aber ausschließlich an das Vorliegen von *Malassezia-furfur*-Strukturen, das heißt von Hyphen neben den Hefezellen gebunden; nur gelegentlich wird *Malassezia furfur* in erscheinungsfreier Haut nachgewiesen.

Was in vivo die Transformation vom normalen Standortkeim *Pityrosporum orbiculare* zum parasitischen Pilz *Malassezia furfur* bewirkt, ist nicht bekannt (NOBLE 1981). Als erregereigentliche Faktoren werden diskutiert, daß bestimmte Stämme von *Pityrosporum orbiculare* virulenter sein könnten als die üblicherweise die Haut kolonisierenden Hefen oder daß die Ökologie der *Pityrospora* Gleichgewicht beziehungsweise Ungleichgewicht zwischen *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* oder zwischen Pilz- und Bakterienflora für die Manifestation der *Pityriasis versicolor* entscheidend sein könnte (ROBERTS 1969).

Pityrosporum pachydermatis, eine dritte zoophile Spezies aus der Gattung der *Pityrosporen* kommt beim Menschen praktisch nicht vor (NOBLE 1981).

Pityriasis versicolor

Pityriasis versicolor ist eine nur beim Menschen vorkommende, oberflächliche Pilzinfektion der Haut. In südlichen Regionen gemäßigter Klimazonen ist die Erkrankung häufiger als in nördlichen, in den Tropen und Subtropen ist sie sehr häufig, vermutlich die häufigste Dermatomykose überhaupt. In Mitteleuropa oder Nordamerika haben 0,5 - 1,0 % aller dermatologischen Patienten eine Pityriasis versicolor (GÜTZ 1962), in tropischen Regionen hingegen finden sich sehr viel höhere Krankheitsziffern: 5 - 28 % in Indien, 15 - 40 % in Zentralafrika, bis 36 % in Zentral- und Südamerika (VANBREUSEGHEM 1968).

Epidemiologische Daten lassen daher Zusammenhänge zwischen unterschiedlichen Klimaten und Manifestationen der Pityriasis versicolor vermuten.

Pityriasis versicolor ist klinisch durch meist zahlreiche, rundliche, scharf begrenzte, hyperpigmentierte, milch-kafeeefarbene, schmutziggelbe bis bräunliche, selten entzündliche, gerötete Fleckenbildung gekennzeichnet. Bei Angehörigen dunkelhäutiger Rassen finden sich daneben primär hypopigmentierte Läsionen, bei heller Komplexion tritt "versicolore", pseudoleukodermische Tönung der Herde erst sekundär nach Sonnenbestrahlung und Bräunung der umgebenden Haut auf (GÜTZ 1962).

Der Primäreffloreszenz ist ein ein bis zwei Millimeter großer, oft follikulär gebundener Punkt (BLAICH 1940), aus der linsen- bis pfennigstückgroße Flecken entstehen, die zu nummulären Plaques heranwachsen und zu großflächigen, landkartenartig begrenzten Herden konfluieren können; kleinpapulöse Hauterscheinungen sind selten (MALE 1981).

Die Oberfläche der pilzbefallenen Haut ist glatt oder schilfert pityriasisiform; Kratzstriche werden in Läsionen als diagnostisch kennzeichnendes "Hobelspanphänomen" durch weißliche, zersplitterte Schuppen markiert (KEINING, BRAUN-FALCO 1969). Unter Woodlicht, das heißt bei Beleuchtung mit langwelligem ultraviolettem Licht von ca. 365nm Wellenlänge, zeigen die Krankheitsherde in ungewaschener, nicht belichteter Haut, rötlichgelbe bis gelbgrünliche Fluoreszenz (GÜTZ 1962).

Typische Lokalisationen der Pilzinfektion sind in gemäßigten Klimazonen die kleidungsbedeckten, seborrhoischen Areale des Körpers, vor allem der obere Stamm im Bereich der talgdrüsenreichen Brust und Rückenrinne, mit Ausbreitung seitwärts über den Rumpf, die Schultern und den Nacken. Sonstige Manifestationen am Integument, zum Beispiel in der Genitalregion, sind selten, prinzipiell kann jedoch jede Körperstelle befallen sein; Haare und Nägel sowie die Schleimhäute sind nie befallen (GÜTZ 1962).

Die Hauterscheinungen sind kosmetisch störend, verursachen jedoch üblicherweise keine Beschwerden, selten wird geringer Juckreiz angegeben. Die Behandlung der Pityriasis versicolor ist mit einer Vielzahl von Externa möglich, die nicht unbedingt antimyketisch wirksame Bestandteile enthalten müssen. Kurzfristige Rezidive nach zunächst erfolgreicher Therapie sind häufig (FLORIAN 1969)

Die Erkrankung gilt als nicht kontagiös. Familiäre Häufung, Zwillingsbeobachtungen und Hinweise auf rassische Unterschiede im Vorkommen von Pityriasis versicolor lassen eine genetische Disposition für die Pilzinfektion vermuten (BURKE 1961).

Der Erreger der Pityriasis versicolor stellt sich als in den obersten Hornschichten der Haut gelegenes Konglomerat von zahlreichen, haufenartig angeordneten, meist kugeligen, seltener ovalen Zellen (Sporen), mit drei bis sechs (bis acht) Mikrometer Durchmesser dar.

Klinische manifeste Erscheinungen sind an das gleichzeitige Vorkommen von plumpen, leicht gekrümmten, 2×10 - 40μ messende Hyphen gebunden, die extra- und intrazellulär in die Tiefe penetrieren, jedoch nicht in lebende Schichten der Epidermis eindringen (GÜTZ 1962)

Die auf Nährboden gezüchteten Hefezellen ähneln den "Sporen" von *Malassezia furfur* (GORDON 1951). Hyphen, die *Malassezia furfur* in Läsionen kennzeichnen, werden auf üblichen Nährböden nicht gebildet, allenfalls in Primärkultur (BURKE 1961). In-vitro-Induktion dimorphen Verhaltens von *Pityrosporum orbiculare*, das ist die Entwicklung von Hyphen aus Hefezellen, ist erst in den letzten Jahren auf speziellen Nährmedien gelungen und hat die morphologische Identität von *Malassezia furfur* und *Pityrosporum orbiculare* bestätigt (DORN 1977).

Zielsetzung der eigenen Untersuchungen

Pityrosporum orbiculare unterscheidet sich von *Pityrosporum ovale* in verschiedener Hinsicht. Das erstere ist mit *Pityriasis versicolor* vergesellschaftet, kann aber auch von normaler, haarloser Haut des Rückens, des Magens und der Brust und nicht so leicht von der Kopfhaut kultiviert werden. Im Gegensatz dazu findet man *Pityrosporum ovale* öfters auf der Kopfhaut. Man hatte früher angenommen es sei das ätiologische Agens von Kopfschuppen. Die Zellen von *Pityrosporum orbiculare* sind kugelförmig, wogegen die Zellen von *Pityrosporum ovale* zylindrisch bis oval geformt sind. Eine Zelle von *Pityrosporum ovale* enthält im Durchschnitt 23 Mitochondrien im Gegensatz zu einem Mittelwert von 2,6 pro Zelle bei *Pityrosporum orbiculare* (KEDDIE). Anders als *Pityrosporum orbiculare* kann *Pityrosporum ovale* auf ausgewählten Nährböden, die keine Fettsäure haben, gehalten werden.

Auf der anderen Seite haben die beiden Organismen eine Anzahl von Eigenschaften gemeinsam. Zur Erstisolierung ist bei beiden Hefen der Zusatz von gesättigten Fettsäuren, im allgemeinen in der Form von Olivenöl, zu den Kulturmedien erforderlich (GORDON 1951). Beide wachsen gut bei 33° C und tolerieren nicht mehr als 41° C. Beide vertragen 50 % Glucose im Nährboden und wachsen nicht mehr bei 60 %. Beide produzieren Urease, tolerieren Cycloheximid und verflüssigen Gelatine. Beide vermehren sich durch unipolares Knospen. Aminosäuren- und Vitamin-Zusätze zu Kulturmedien stimulieren das Wachstum der Hefen unterschiedlich aber nicht entscheidend. Bei *Pityrosporum orbiculare* kann Glycin Hyphen induzieren (DORN, ROEHNERT 1977).

Da in der mykologischen Taxonomie nicht graduelle Unterschiede sondern nur absolute Nährstoffbedürfnisse als relevante Merkmale gelten, genügen solche physiologischen Unterschiede nicht um beide Hefen zu differenzieren, die zum Beispiel auch in vitaminfreien Medien wachsen. Eine serologische Typisierung, wie man es beispielsweise bei *Candida*-Hefen machen kann, ist bei den *Pityrosporum*-Spezies nicht möglich.

Solche Ähnlichkeiten führten zu dem Schluß, daß *Pityrosporum ovale* und *Pityrosporum orbiculare* als eine Gattung angesehen werden sollten.

Pityrosporum orbiculare und *Pityrosporum ovale* werden *in vitro* und *in vivo* ausschließlich morphologisch unterschieden. Mit sonstigen mykologisch-taxonomischen Kriterien ist es also nach dem gegenwertigen Wissensstan nicht möglich, beide Hefen eindeutig zu differenzieren. Es ist daher eine immer noch offene Frage, ob beide Hefen tatsächlich selbstständige Spezies sind oder lediglich unterschiedliche Wuchsformen im Entwicklungszyklus eines einzigen Pilzes.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, die morphologische Variabilität der *Pityrospora* unter verschiedenen Kulturbedingungen zu untersuchen und damit Anhalt dafür zu gewinnen, ob es sich tatsächlich um eine Pilzart oder ob es sich um zwei verschiedene Hefen der gleichen Gattung handelt.

Material und Methode

Teststämme

Pityrosporum-orbiculare-Teststämme waren aus Läsionen von *Pityriasis versicolor* isolierte Hefen, die aufgrund ihres Aussehens (SLOOFF) bei primärer Isolation mit runden Sproßzellen, relativ schmalbasiger Sprossung und aufgrund strikter Lipidabhängigkeit, als solche identifiziert und unterschiedlich lange Zeit in Subkultur auf LIPO-Medien (s.u.) gehalten worden waren. Daneben wurde bei einem Teil der Versuche das Verhalten dieser Sammlungsstämme mit frischen Isolaten von *Pityrosporum orbiculare* verglichen oder mit Kulturen des gleichen Stammes, die in sterilem Aqua dest. konserviert worden waren. Referenzstämme von *Pityrosporum orbiculare* aus Kulturkollektionen und Referenzlaboratorien standen zum Zeitpunkt der Untersuchungen wegen der "Kurzlebigkeit der Hefe auf künstlichen Nährmedien" (SLOOFF) nicht zur Verfügung.

Ein Stamm von *Pityrosporum orbiculare* wurde unter der Bezeichnung "*Pityrosporum ovale*, *orbiculare*-type, RV 34168" von R. VANBREUSEGHEM Institut de Medecine Tropicale, Antwerpen, zur Verfügung gestellt.

Teststämme von *Pityrosporum ovale*, die zu Vergleichsuntersuchungen herangezogen wurden, stammten aus unterschiedlichen Quellen. Vom Centralbureau voor Schimmelcultures (CBS), Baarn, Yeast Division, einem europäischen Referenzlabor für Pilzkulturen, wurden die Stämme CBS 1070, CBS 1878, CBS 4162 bezogen. *Pityrosporum ovale* CBS 1878 ist der "type strain" des Genus und der Spezies. Ein Stamm von *Pityrosporum ovale* wurde von R. VANBREUSEGHEM

unter der Bezeichnung "Pityrosporum ovale, ovale-type, RV 33602" zur Verfügung gestellt, zwei Stämme von D. GRIGORIU; Dermatologische Universitätsklinik Lausanne, und ein Stamm (NJ 55) von M. A. GORDON, New York State Department of Health, New York.

Stämme von Pityrosporum pachydermatis stammten teils vom Centralbureau voor Schimmelcultures: CBS 1879, CBS 1880, wobei CBS 1879 der Neotyp-Stamm der Spezies ist und ursprünglich 1955 von GUSTAFSON (SLOOFF) isoliert worden ist. Jüngere Isolate von Pityrosporum pachydermatis wurden von K.H.BÖHM, Mikrobiologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover, zur Verfügung gestellt.

Mikroskopische Sproßzellmorphologie

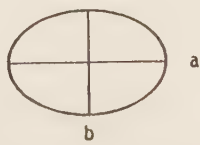
Die Formvariabilität bzw. Formkonstanz von Hefezellen individueller Stämme der *Pityrospora* wurde durch Bestimmung eines Exzentrizitätskoeffizienten (EC) unter verschiedenen Kulturbedingungen geprüft.

Die *Pityrosporum*-Stämme wurden nach siebentägiger Anreicherungskultur aus LOM-Medium in Filamentationsmedium I, II und LOM-Medium überimpft sowie Subkulturen auf LIPO-Agar angelegt.

Die Kulturen wurden bei 30° C in Schüttelkultur beziehungsweise im Wärmeschrank bebrütet. Nach fünf und nach zehn Tagen Inkubation wurde Material für lichtmikroskopische Ausstrichpräparate entnommen. Bei den Flüssigkulturen wurden Hefezellen aus Teilmengen von 5 - 10 ml abzentrifugiert, dreimal mit Aqua dest. gewaschen, auf mit Meyers Albumin dünn beschichteten Objektträger ausgestrichen und nach Lufttrocknung PAS-gefärbt, während die Materialentnahme vom LIPO-Agar mit der Platinöse erfolgte.

Für jede Hefezelle wurde dann der größte Längsdurchmesser ("a") von Pol zu Pol, oder bei sprossenden Zellen vom Pol zur Sproßnarbe, sowie der größte Querdurchmesser ("b") bestimmt und der dimensionslose Exzentrizitätskoeffizient EC errechnet:

$$EC = \frac{\sqrt{a^2 - b^2}}{a}$$



The diagram shows an ellipse with a horizontal major axis labeled 'a' and a vertical minor axis labeled 'b'. The axes intersect at the center of the ellipse.

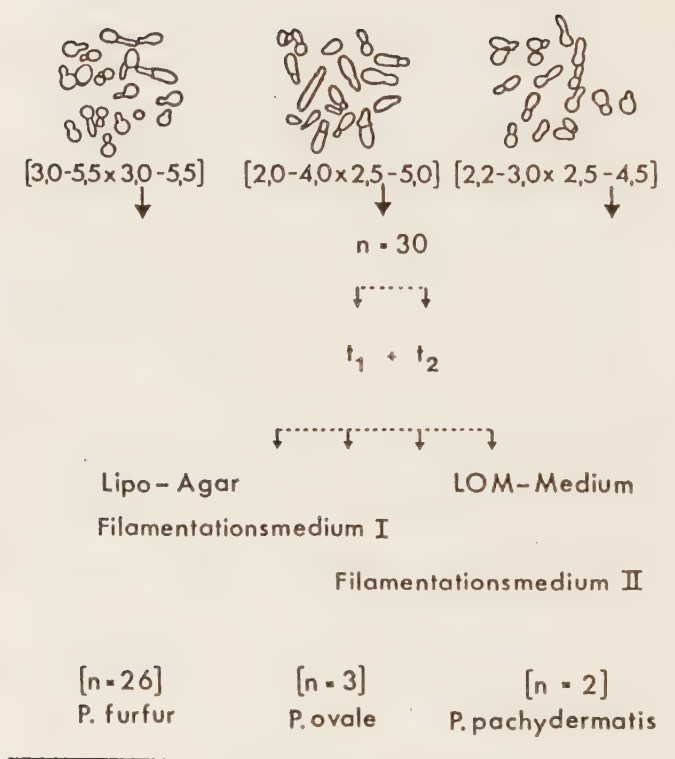


Abb. 1

Schematische Darstellung der Methodik zur Bestimmung der Variabilität der Sproßzellmorphologie unter verschiedenen Kulturbedingungen nach unterschiedlicher Kulturdauer.

Kulturelle Methode

Die Anzüchtung der *Pityrospora* erfolgte auf festen und flüssigen Nährböden:

1. LIPO-Agar

10 g Phyton

1 g Yeast Extrakt

20 g Glucose

15 g Agar auf 1000 ml mit A.d. aufgefüllt

wird auf 85 - 90° erwärmt.

Zusatz von 50 mg Chloramphenicol in 1 ml Alkohol

500 mg Cycloheximid in 1 ml Aceton

Mit 1 N HCl wird pH 5,8 eingestellt

Dem abkühlenden Medium werden bei ca. 50 - 60 °C

20 ml Olivenöl und 2 ml Tween zugesetzt.

2. Filamentationsmedium I

0,06 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ - $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ Puffer,

pH Wert 5,6

Pro Liter 1 g KNO_3

0,13 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

0,007 g FeSO_4

1,3 mg NaCl

13 g Glucose

5 ml Tween 80

0,05 g Chloramphenicol und

0,5 g Cycloheximid.

Dem sterilisierten Medium wurde 0,05 M Glycin zugesetzt.

3. Filamentationsmedium II

0,06 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ - $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ Puffer, pH wert 5,6

Pro Liter 1 g KNO_3

0,13 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

0,007 g FeSO_4

1,3 mg NaCl

13 g Glucose

5 ml Tween 80

0,05 g Chloramphenicol und

0,5 g Cycloheximid

Dem sterilisierten Medium wurde 0,1 M Nilotinsäureamid zugesetzt.

4. "Lipid Organisms Maintenance- Medium"

(LOM-Medium nach Weary 1966)

35,0 g Czapek-Broth

2,5 g Yeast-Extrakt auf 1000 ml aufgefüllt

A. d. langsam auf 80 - 90 ° C erwärmen, dann
Zusatz von

75 ml Tween 80

50 mg Chloramphenicol in 1 ml Alkohol

500 mg Cycloheximid in 1 ml Aceton

Mit 1 N HCl pH 5,8 einstellen und autoklavieren.

Zur Beimpfung der flüssigen Medien wurde unter sterilen Bedingungen oberflächlich von einer Zuchtkultur eine gut gefüllte Öse voll Hefe entnommen und in das in einem Erlenmeyer-Kolben befindliche Nährmedium eingebracht.

Modifizierte PAS-Färbung nach Haley-Stanford

Ausstrichpräparate auf mit Meyers Albumin dünn beschichteten Objektträgern wurden über Nacht bei 37°C getrocknet und anschließend PAS gefärbt.

- | | |
|---|---------|
| 1. Absoluter Alkohol | 1 min |
| 2. Perjodsäure | 5 min |
| 3. in Leitungswasser zweimal auswaschen | |
| 4. Basisches Fuchsin | 2 min |
| 5. in Leitungswasser auswaschen bis es
sich kaum mehr rosa färbt | |
| 6. Natrium-meta-bisulfid | 3-5 min |
| 7. in Leitungswasser auswaschen | 2 min |
| 8. 70 % Alkohol | 2 min |
| 9. 85 % Alkohol | 2 min |
| 10. 96 % Alkohol | 2 min |
| 11. Absoluter Alkohol | 2 min |
| 12. Xylol | 2 min |
| 13. Eindecken in Entellan;
das Xylol soll zwar weitgehend verflüchtigt
sein, das Präparat darf aber nicht ganz
trocken werden. | |

Die gefärbte Ausstrichpräparate wurden standardisiert mikrofotografiert (100 faches Objektiv, Ölimmersion, vierfache Nachvergrößerung, Zeiss Fotomikroskop Örtoplan) und die erhaltenen Diapositive standardisiert projiziert.

Ergebnisse

Kultivierung der *Pityrospora* auf LIPO-Agar, in LOM-Medium oder Filamentationsmedien I und II und Bestimmung des Exzentrizitätskoeffizienten EC als Formparameter der Hefezellen ergab bei individuellen Stämmen wechselnde Hefezellformen. Der Koeffizient kennzeichnet längliche, ovale Hefezellen mit $EC = 1$, runde Hefezellen mit Werten, die gegen Null gehen.

Die Gruppen-Mittelwerte für den Exzentrizitätskoeffizienten der verschiedenen Hefen auf den unterschiedlichen Nährmedien zu den beiden Untersuchungszeitpunkten sind in Tab.1-6 dargestellt.

Pro Präparat wurden mindestens 30 Hefezellen ausgewertet. Geprüft wurden 23 Stämme von *Pityrosporum orbiculare*, 3 Stämme von *Pityrosporum ovale* und 5 Stämme von *Pityrosporum pachydermatis*, daneben 3 Hefestämme, die nicht klassifiziert werden konnten: Bei Primärisolation waren vornehmlich runde Hefezellen gefunden und die Isolate als *Pityrosporum orbiculare* beurteilt worden; im Laufe der Subkulturen hatten sich die Hefezellen mehr und mehr gestreckt, so daß sie eher wie *Pityrosporum ovale* aussahen. Keiner dieser drei Stämme produzierte auf Filamentationsmedium I oder II Hyphen.

Die Form der Hefezellen wurde scheinbar durch die Inkubationsdauer beeinflusst. Unter drei Stämmen von *Pityrosporum ovale* wuchs zum Beispiel einer im Lauf der Inkubationsperiode in LOM-Medium mit gegen Ende der Kultur runderen Hefezellen als zu Anfang, während die beiden anderen Stämme durchgehend die kennzeichnende Form ihrer Spezies, das heißt also längliche Hefezellen entwickelten (Abb. 2.).

Ähnlich unterschiedliche und wechselnde Hefezellformen im Lauf der Inkubation wurden auch bei individuellen Stämmen der beiden anderen *Pityrosporum*-Arten gesehen.

VERTEILUNGSWERTE	t ₁	t ₂
Arithmet.Mittelwert	0,663	0,678
Harmonischer Mittelwert	0,626	0,642
Quadratischer Mittelwert	0,678	0,694
Geometrischer Mittelwert	0,645	0,661
Varianz	0,021	0,021
Standardabweichung	0,146	0,148

Tab. 1. Statistik der Exzentrizitätskoeffizienten von *Pityrosporum orbiculare* auf LIPO-Agar nach fünf (t1) und nach zehntägiger (t2) Kultur.

VERTEILUNGSWERTE	t ₁	t ₂
Arithmet.Mittelwert	0,719	0,717
Harmonischer Mittelwert	0,685	0,685
Quadratischer Mittelwert	0,736	0,733
Geometrischer Mittelwert	0,703	0,702
Varianz	0,024	0,022
Standardabweichung	0,154	0,149

Tab. 2. Statistik der Exzentrizitätskoeffizienten von *Pityrosporum orbiculare* in LOM-Medium nach fünf (t1) und nach zehntägiger (t2) Kultur.

VERTEILUNGSWERTE	t_1	t_2
Arithm. Mittelwert	0,661	0,707
Harmonischer Mittelwert	0,606	0,679
Quadratischer Mittelwert	0,685	0,720
Geometrischer Mittelwert	0,032	0,019
Varianz	0,032	0,018
Standardabweichung	0,180	0,137

Tab. 3. Statistik der Exzentrizitätskoeffizienten von *Pityrosporum orbiculare* in Filamentationsmedium I nach fünf(t_1) und nach zehntägiger (t_2) Kultur.

VERTEILUNGSWERTE	t_1	t_2
Arithmet.Mittelwert	0,657	0,631
Harmonischer Mittelwert	0,621	0,599
Quadratischer Mittelwert	0,673	0,645
Geometrischer Mittelwert	0,639	0,615
Varianz	0,021	0,018
Standardabweichung	0,147	0,136

Tab. 4. Statistik der Exzentrizitätskoeffizienten von *Pityrosporum orbiculare* in Filamentationsmedium II nach fünf (t_1) und zehntägiger (t_2) Kultur

Pityrosporum spp.	Nährboden	EC ($\bar{x} \pm s$)
P. orbiculare (N=23)	LA	0,663 $\pm$ 0,164
	LOM	0,720 $\pm$ 0,180
	F-M I	0,661 $\pm$ 0,212
	F-M II	0,657 $\pm$ 0,168
P. ovale (N=3)	LA	0,819 $\pm$ 0,072
	LOM	0,902 $\pm$ 0,040
	F-M I	0,772 $\pm$ 0,074
	F-M II	0,825 $\pm$ 0,116
P. pachydermatis (N=5)	LA	0,803 $\pm$ 0,066
	LOM	0,908 $\pm$ 0,029
	F-M I	0,767 $\pm$ 0,063
	F-M II	0,863 $\pm$ 0,081
P. orbiculare/ovale (?) (N=3)	LA	0,841 $\pm$ 0,071
	LOM	0,900 $\pm$ 0,049
	F-M I	0,738 $\pm$ 0,099
	F-M II	0,779 $\pm$ 0,101

Tab. 5.

Exzentritätskoeffizienten (EC) von Pityrospora nach Inkubation auf LIPO-Agar, in LOM-Medium, Filamentationsmedium I und II nach fünftägiger Kultur.

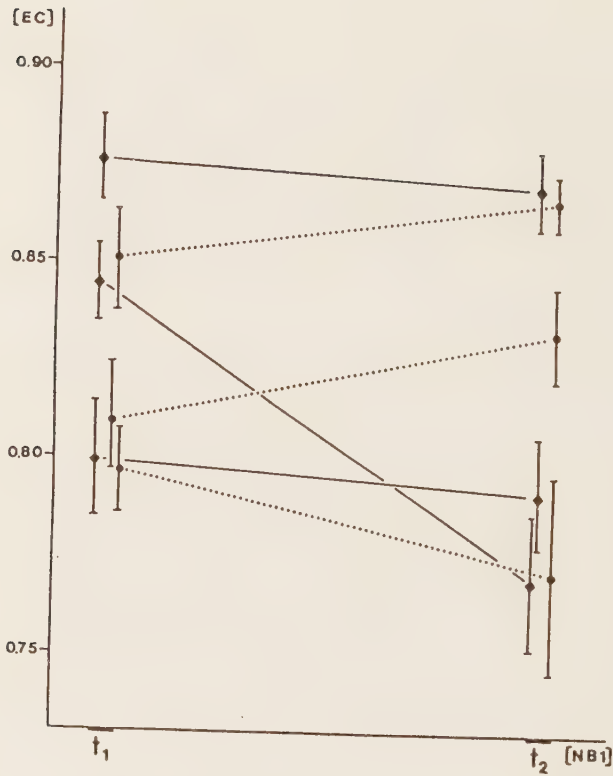
Pityrosporum spp.	Nährboden	EC ($\bar{x} \pm s$)
P. orbiculare (N=23)	LA	0,678 $\pm$ 0,172
	LOM	0,718 $\pm$ 0,176
	F-M I	0,707 $\pm$ 0,160
	F-M II	0,631 $\pm$ 0,156
P. ovale (N=3)	LA	0,824 $\pm$ 0,077
	LOM	0,848 $\pm$ 0,722
	F-M I	0,760 $\pm$ 0,067
	F-M II	0,834 $\pm$ 0,099
P. pachydermatis (N=5)	LA	0,832 $\pm$ 0,054
	LOM	0,903 $\pm$ 0,041
	F-M I	0,744 $\pm$ 0,104
	F-M II	0,881 $\pm$ 0,053
P. orbiculare/ovale (?) (N=3)	LA	0,815 $\pm$ 0,083
	LOM	0,845 $\pm$ 0,077
	F-M I	0,741 $\pm$ 0,086
	F-M II	0,790 $\pm$ 0,095

Tab.6.Exzentritätskoeffizienten (EC) von Pityrospora nach zehntägiger Kultur auf LIPO-Agar,in LOM-Medium,in Filamentationsmedium I und II.

Statistische Prüfung des Einflusses der Inkubationsdauer mittels Varianzanalyse für die abhängige variable Exzentrizitätskoeffizient ergab aber, daß im Gesamtansatz der Zeitfaktor nicht signifikant formbildend war. Demgegenüber waren Nährbödeneinflüsse auf die Form der Hefezellen im Gesamtansatz signifikant, obwohl auch hierbei die Formvariabilität bei individuellen Stämmen aller drei Spezies stark unterschiedlich war.

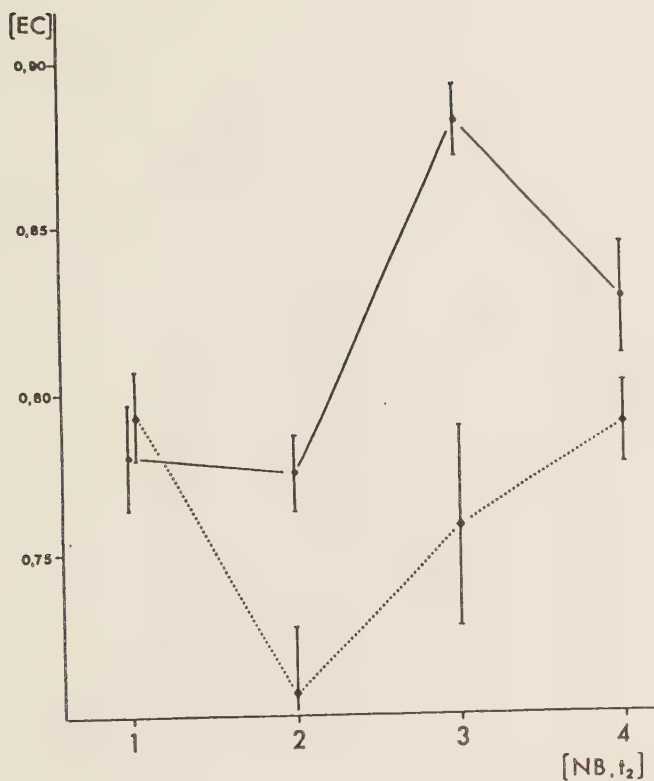
Pityrosporum-orbiculare-Hefen zeigten auf festem LIPO-Agar -wie nach Selektion der Stämme bei Primärisolation auf eben diesem Medium zu erwarten steht- und in LOM-Medium rundere Hefezellen als *Pityrosporum ovale* und *Pityrosporum pachydermatis*. IN LOM-Medium waren die Unterschiede weniger deutlich als auf LIPO-Agar, da die Hefezellen von *Pityrosporum orbiculare* länglich wurden und damit *Pityrosporum ovale* ähnelten, während *Pityrosporum ovale* in LOM-Medium nur mäßige zusätzliche Streckung der Hefezellen zeigte. Auffallend war die Elongation der Hefezellen von *Pityrosporum pachydermatis* in LOM-Medium, wobei diese Spezies aber auch in anderen Nährmedien durch länglich-ovale Hefezellen charakterisiert war.

In Filamentationsmedium I bestanden unter dem Einfluß von Glycin kaum noch Formunterschiede zwischen den *Pityrospora*. In diesem Medium war es nicht möglich, aufgrund des Exzentrizitätskoeffizienten zwischen *Pityrosporum orbiculare*, *Pityrosporum ovale* und *Pityrosporum pachydermatis* zu unterscheiden. Jedoch entwickelten 14 der geprüften 23 Stämme von *Pityrosporum orbiculare* in diesem Medium Hyphen, während die beiden anderen Spezies kein dimorphes Verhalten zeigten.



P. orbicul. [12, 18, 24]: $\blacklozenge \longrightarrow \blacklozenge$
P. ovale [CBS 4162, 1070, 1878]: $\blacklozenge \cdots \cdots \blacklozenge$

Abb. 2. Exzentrizitätskoeffizienten (EC) von *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale*-Stämme auf LIPD-Agar nach fünf- (t_1) und nach zehntägiger Inkubation (t_2) bei 30° C.



P. orbiculare (—) M 18, (···) M 24

Abb. 3. Exzentritätskoeffizienten (EC) von *Pityrosporum orbiculare* auf LIP0-Agar (1), in LOM-Medium (2), Filamentationsmedium I (3) und II (4) nach zehntägiger Inkubation bei 30° C.

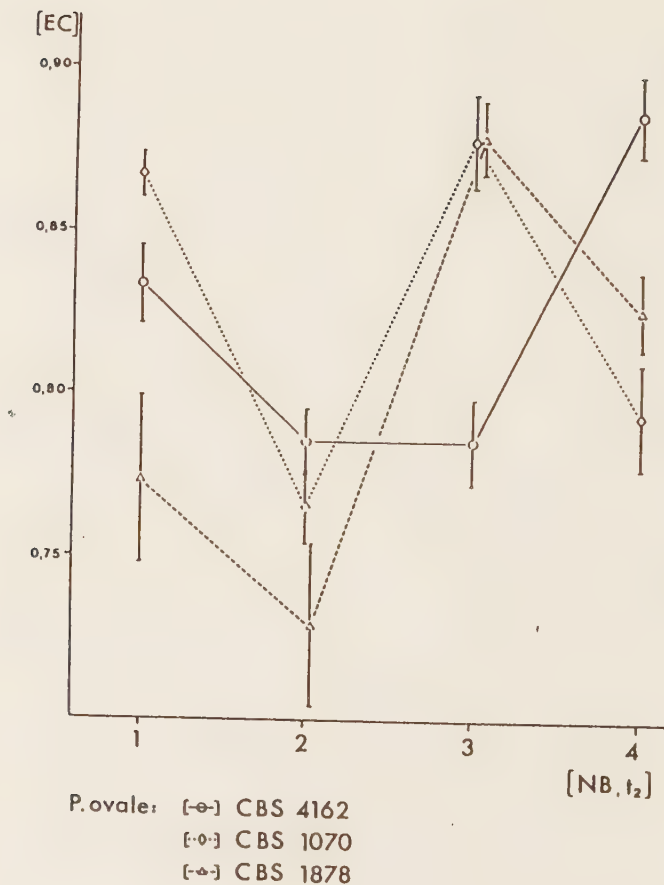


Abb.4. Exzentrizitätskoeffizienten von *Pityrosporum ovale* auf LIPO-Agar (1), in LOM-Medium (2), in Filamentationsmedium I (3) und II (4) nach zehntägiger Kultur bei 30°C.

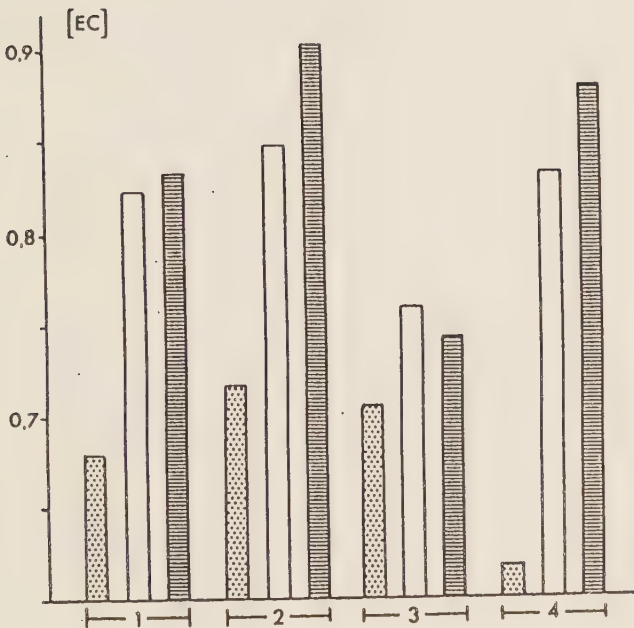


Abb.5.

Mittelwerte der Exzentritätskoeffizienten (EC) von *Pityrosporum orbiculare* (dotted), *Pityrosporum ovale* (white), *Pityrosporum pachydermatis* (hatched) auf LIPO-Agar (1), in LOM-Medium (2), in Filamentationsmedium I (3) und II (4) nach zehntägiger Kultur bei 30° C.

In Filamentationsmedium II entwickelten zwei von drei Stämmen von *Pityrosporum ovale* Filamente und auch einer der Stämme von *Pityrosporum pachydermatis*. Die Hefezellen von *Pityrosporum ovale* und *Pityrosporum pachydermatis* waren in Filamentationsmedium II deutlich elongiert, während Stämme von *Pityrosporum orbiculare* mit $EC = 0,657$ in diesem Medium am typischsten runde Formen und Sprossung auf einer relativ schmalen Basis demonstrierten..

Zusammenfassend zeigten Stämme von *Pityrosporum pachydermatis*, nächst *Pityrosporum ovale* die extremsten Formschwankungen bei Kultur in unterschiedlichen Nährmedien. *Pityrosporum orbiculare*-Stämme erwiesen sich als vergleichsweise formstabil.

Die *Pityrosporum*-Stämme, die ursprünglich als *Pityrosporum orbiculare* klassifiziert worden waren, deren Spezies-Zugehörigkeit letztlich aber zweifelhaft war, verhielten sich auf verschiedenen Nährmedien eher wie *Pityrosporum ovale*. Auf LIPO-Agar, in LOM-Medium und unter Einfluß von Nikotinsäureamid in Filamentationsmedium II fanden sich gestreckte Hefezellen, die nicht so stark elongiert waren wie bei den typischen Vertretern von *Pityrosporum ovale*, sich jedoch signifikant von *Pityrosporum orbiculare* unterschieden.

Die Formänderung der Hefezellen der *Pityrospora* auf den verschiedenen Nährmedien war völlig reversibel. Elongierte Hefezellen von *Pityrosporum orbiculare* aus LOM-Medium wurden auf LIPO-Agar beispielsweise wieder rundlich oder die vergleichsweise runden Hefezellen von *Pityrosporum ovale* aus Filamentationsmedium I streckten sich bei unmittelbarer Subkultur in LOM-Medium.

Diskussion

Pityrosporum orbiculare und *Pityrosporum ovale* werden *in vitro* und *in vivo* ausschließlich morphologisch unterschieden. Sonstige mykologisch-taxonomische Kriterien reichen nicht hin, beide Hefen eindeutig zu differenzieren (RANDJANDICHE 1976, SALKIN 1977). Die Frage bleibt also offen, ob beide Hefen tatsächlich selbstständige Spezies, oder lediglich Wuchsformen im Entwicklungszyklus eines einzigen Pilzes sind, dessen jeweilige Erscheinungsform *in vivo* von erregereigentümlichen Faktoren, möglicherweise eben auch von Wirtsbedingungen bestimmt wird.

Bei der Erstbeschreibung des Spezies *Pityrosporum orbiculare* hat GORDON (1951) lediglich zwei, heute noch gültige Kriterien zur Abgrenzung der Hefe gegenüber *Pityrosporum ovale* benutzt, nämlich die Morphologie der Hefezellen und die Art der Sprossung. Demnach ist *Pityrosporum orbiculare* bei Primärisolationen durch runde Hefen gegenüber ellipsoid bis länglich-ovalen Zellen bei *Pityrosporum ovale* gekennzeichnet, daneben durch Sprossung auf schmaler Basis gegenüber breitbasiger Sprossung (GORDON 1951). In Subkulturen von *Pityrosporum orbiculare* wird regelmäßig ein allmählicher Übergang von typisch runden Hefezellen zu eiförmigen, ovalen oder elongierten Formen beobachtet, die sich kaum noch von *Pityrosporum-ovale*-Zellen unterscheiden. Nacheinander verliert sich das Merkmal der schmalbasigen Sprossung die in Relation zum dann schlankeren Zelleib breitbasiger erscheint. RANDJANDICHE (1977) hat diesen Polymorphismus von *Pityrosporum orbiculare* in Monosporokultur verfolgt und zeigen können, daß sich ovale Hefezellen aus runden entwickeln.

Bei unseren Versuchen entwickelten individuelle *Pityrosporum*-Stämme auf den verschiedenen Nährböden unterschiedliche, rundere oder länglichere Hefezellen. Die Nährbodeneinflüsse auf die Form der Hefezellen sind im Gegensatz zum Einfluß der Inkubationsdauer im Gesamtansatz signifikant.

Pityrosporum-orbiculare-Hefen zeigten auf festem LIPO-Agar -wie nach Selektion der Stämme bei Primärisolation - auf eben diesem Medium zu erwarten steht- deutlich rundere Hefezellen als *Pityrosporum ovale* oder *Pityrosporum pachydermatis*, die beide in länglichen Zellen vorliegen. In LOM-Medium verwischen sich diese Unterschiede, da die Hefezellen von *Pityrosporum orbiculare* sich strecken und länglich werden und damit *Pityrosporum ovale* ähneln, während *Pityrosporum ovale* in LOM-Medium nur mäßige zusätzliche Streckung der Hefezellen zeigt. Auffallend ist die deutliche Elongation der Zellen von *Pityrosporum pachydermatis* in LOM-Medium, wobei diese Spezies eben auch bei den anderen Nährmedien durch länglich ovale Hefezellen charakterisiert waren. In Filamentationsmedium I bestanden unter dem Einfluß von Glycin kaum noch Formunterschiede zwischen den *Pityrospora*. In diesem Medium war es nicht möglich, aufgrund des Exzentrizitätskoeffizienten zwischen *Pityrosporum orbiculare*, *Pityrosporum ovale* oder *Pityrosporum pachydermatis* zu unterscheiden. Siebzehn der geprüften dreiundzwanzig Stämme von *Pityrosporum orbiculare* entwickelten jedoch in diesem Medium Hyphen, während die beiden anderen Stämme kein dimorphes Verhalten zeigten.

In Filamentationsmedium II entwickelten hingegen zwei Stämme von *Pityrosporum ovale* Filamente und auch einer der Stämme von *Pityrosporum pachydermatis*. Die Hefe-

zellen von *Pityrosporum ovale* und *Pityrosporum pachydermatis* waren in Filamentationsmedium II deutlich elongiert, während Stämme von *Pityrosporum orbiculare* mit $EC = 0,615$ in diesem Medium am typischsten runde Formen und Sprossen auf einer relativ schmalen Basis demonstrierten. Die *Pityrosporum*-Stämme, die ursprünglich als *Pityrosporum orbiculare* klassifiziert worden waren, deren Zugehörigkeit letztlich aber zweifelhaft war, verhielten sich auf den verschiedenen Nährmedien eher wie *Pityrosporum ovale*. Auf LIPO-Agar, in LOM-Medium und unter Einfluß von Nikotinsäureamid in Filamentationsmedium II fanden sich deutlich gestreckte Hefezellen, die aber nicht so stark elongiert waren wie bei den typischen Vertreter von *Pityrosporum ovale*, die sich jedoch signifikant von *Pityrosporum orbiculare* unterschieden.

Die lipophilen Hefen *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* sind einerseits, ohne offensichtliche pathogene Bedeutung, normale Bestandteile der kutanen Mikroflora des Menschen allenfalls mit *Pityriasis simplex capillitii* oder der sogenannten *Pityrosporum*-Follikulitis assoziiert. Andererseits ist *Pityrosporum orbiculare* mit dem Erscheinungsbild *Malassezia furfur* ursächlicher Erreger der oberflächlichen Dermatomykose *Pityriasis versicolor*.

Pityrosporum orbiculare und *ovale* werden *in vitro* und *vivo* ausschließlich morphologisch unterschieden, sonstige mykologisch-taxonomische Kriterien reichen nicht hin, beide Hefen eindeutig zu differenzieren. Unterscheidung nach Form und Größe der Hefezellen ist unsicher, da es *in vitro* gelingt, Übergangsformen von *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* zu erzeugen (SALKIN, GORDON 1977).

Ziel der vorangehend dargestellten Untersuchungen war es deswegen die morphologische Variabilität auf verschiedenen Nährböden von *Pityrospora* zu untersuchen und auf der Grundlage der Ergebnisse und zusammen mit den aus der Literatur bekannten, eingangs zitierten Befunden, sollten vorhandene Gemeinsamkeiten oder Unterschiede zwischen *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* beziehungsweise zwischen *Pityrospora* und *Malassezia furfur* beurteilt werden.

Dimorphismus wie bei *Pityrospora* ist allgemein in der Mykologie ein ungewöhnliches Phänomen und wird von nur wenigen Hefen, zum Beispiel von *Candida albicans* gezeigt. Dimorphismus von *Candida albicans* *in vitro* wird als nicht gesetzmäßige, eigentlich unsinnige, vorübergehende Antwort des Mikroorganismus interpretiert, die während des Wachstums unter extremen experimentellen Bedingungen bei hoher Temperatur und neutralem pH-Wert auftritt. Hyphen *in vivo* werden als entsprechende Reaktion, das heißt als Zeichen für aktives Wachstum und sekundären Nährsubstratmangel, nicht als die zur Gewebsinvasion notwendige Form angesehen (ODDS 1979).

In vivo könnte es bei den *Pityrospora* ähnlich sein. Unter günstigen, wirtsbestimmten Bedingungen könnten sie besonders aktiv wachsen und deshalb einerseits große, runde Sproßzellen von *Pityrosporum-orbiculare*-Typ, bei sich erschöpfendem Nährstoffangebot andererseits unter dem Bild *Malassezia furfur* "unnötige" Hyphen entwickeln. Für die *in-vitro*-Induktion von Hyphen kann das nicht gleichermaßen gelten. Das Wachstum der *Pityrospora* in Filamentationsmedien ist spärlich, anders als bei *Candida albicans* in Filamentationsmedien ist die Zellausbeute gering, sodaß hier eher eine primäre Mangelsituation dimor-

phes Verhalten induziert. Andererseits haben wir an den Hefezellen von *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* in Filamentationsmedien multilokuläre Sprossungen mit halskrausenartig begrenzten Ausstülpungen der Zellwand gefunden, was den Genuskriterien des unipolaren Sprossens bei *Pityrosporum*-Hefen widerspricht und bisher weder in vivo noch in vitro beobachtet worden ist. Die atypische Sprossung läßt daran denken, daß die Filamentationsmedien doch überstürzte Zellzyklen in unphysiologischem Milieu anregen (DORN 1982).

Diese atypische Sprossung konnte bei der Auswertung unserer Präparate mehrfach beobachtet werden. Die Strukturen wurden aber bei der Bestimmung des Exzentritätskoeffizienten nicht berücksichtigt.

Bei unseren Untersuchungen zur Formstabilität oder -variabilität von *Pityrospora* wurden *Pityrosporum orbiculare*-Stämme durch das Primärisolat und die Subkulturtechnik definiert, die zu Pilzkolonien führt, die Monosporkulturen entsprechen. Die Form der Hefezellen wurde jeweils als aktueller Querschnitt durch die gesamte Variationsbreite der Hefepopulation zu einem gegebenen Zeitpunkt unter definierten Kulturbedingungen mathematisch erfaßt. Hierbei bestätigte sich einerseits die Tendenz bei *Pityrosporum orbiculare*, in Subkultur mit identischen Hefezellformen für *Pityrosporum ovale* zu wachsen, andererseits waren die Veränderungen Nährbodenabhängig und die Formänderung der Hefezellen reversibel. In Routine-Subkultur-Medien waren *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* bei direktem Vergleich durch rundere beziehungsweise ovalere Hefezellen signifikant unterschieden. Bei Bestimmung dimorphen Verhaltens gilt allerdings die Einschränkung, daß primär speziestypische, selektierte Isolate von *Pityrosporum orbiculare* für die Untersuchungen eingesetzt wurden.

Individuelle Stämme zeigten erhebliche Variabilität der Sproßzellenmorphologie, die bei *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* jeweils das gesamte Spektrum rund-oval-elongiert umfaßten.

Es ist zwar zu bedenken, daß die Variationsbreite, die auf künstlichen Nährmedien auftritt, nicht unbedingt mit der gleichen Variabilität in der Natur übereinstimmen muß, da es hier eine Art formstabilisierende Selektion geben mag, nach mykologisch-taxonomischen Kriterien ist Speziesdefinition (GORDON 1978) von *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* auf morphologischer Basis der Hefezellform nicht möglich.

Zusammenfassend bleibt festzustellen, daß *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* morphologisch nicht hinreichend unterschieden werden können. Unterschiedliche Mikromorphologie von *Pityrospora* ist ein instabiles, variables Kennzeichen, makroskopisch und ultrastrukturell sind die Hefen identisch. Serologische Typisierung und Spezieszuordnung ist nicht möglich. Bei Tierexperimenten und humanen Infektionsversuchen erweisen sich beide Hefen als avirulent (DORN 1982).

Pityrosporum ovale und *Pityrosporum orbiculare* müssen daher als identische Spezies angesehen werden.

Pityrospora sind einerseits normale Bestandteile der kutanen Mikroflora, andererseits ist der *Pityrosporum orbiculare*-Typ mit dem Erreger der *Pityriasis versicolor*, *Malassezia furfur* identisch. Mit unseren in vitro-Untersuchungen konnte nicht geklärt werden, inwieweit die

Hefen durch wirtseigentümliche Faktoren transformiert werden. Die wechselnde Form der *Pityrospora* in vivo könnte von Milieubedingungen und dem Angebot von Nährsubstraten abhängig sein. Krankheitszeichen sind ausschließlich an das Vorliegen der filamentierenden Form *Malassezia* furfur gebunden. Die negativen Infektionsversuch mit Hyphen von *Pityrosporum orbiculare* lassen keine besondere Virulenz des Pilzes in dimorpher Form annehmen. Die Pilzmorphogenese in vivo wird vermutlich durch quantitative oder qualitativ geänderter Zusammensetzung vornehmlich wasserlösliche Bestandteile der Hornschicht bestimmt (FINDLAY 1979), zum Beispiel durch höhere Konzentration an Aminosäuren oder Zucker. Das in-vitro-Korrelat dazu ist die Tatsache, daß nach Untersuchungen von DORN 1977 *Pityrosporum orbiculare* unter Einfluß von Glycin besonders *Malassezia furfur*-typisch filamentiert.

Nach mykologisch-taxonomischen Kriterien ist die Speziesdefinition von *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* auf der morphologischen Basis der Hefezellform nicht möglich. *Pityrosporum orbiculare* und *Pityrosporum ovale* sind nach mykologischen Kriterien eine Hefespezies; die unterschiedliche Morphologie entspricht allenfalls biotypischen Varianten, denen keine unterschiedliche medizinische Bedeutung zukommt.

Literaturverzeichnis

Ackerman, A. B., Kligman, A. M.: Some observations on dandruff. J. Soc. Cosm. Chem. 20: 81-101 (1969)

Benham, R. W., Hopkins, A. M.: Yeastlike fungi found on the skin and in the intestines of normal subjects. Arch. Derm. Syph. 28: 532-543 (1933)

Benham, R. W.: The cultural characteristics of *Pityrosporum ovale* - a lipophylic fungus. J. Invest. Derm. 2: 187-203 (1939)

Blaich, W.: Beitrag zur Kenntnis der Pityriasis versicolor. Derm. Wschr. 110: 65-70 (1940)

Bojanovsky, A., Bohnert, E., Jung, E. G.: *Pityrosporum orbiculare*: Erreger verschiedener klinischer Bilder und Modell einer Depigmentierungsart. Akt. Derm. 5: 19-25 (1979)

Braun, N., Krentel, G.: Die Frequenz der Dermatomykosen der Hautklinik Magdeburg im Berichtsjahr 1962. Mykosen 8: 136-156 (1965)

Braun-Falco, O., Heilgemeir, G. P.: Zur Kopfschuppung (*Pityriasis simplex capillitii*). Hautarzt 29: 245-250 (1978)

Brown, L. G.: Otitis externa. Brit. Med. J. 11: 698-670 (1937)

Burke, R. C.: Tinea versicolor: Susceptibility factors and experimental infection in human beings. J. Invest. Derm. 36: 389-402 (1961)

Dorn, M., Rohnert, K.: Dimorphism of Pityrosporum orbiculare in a defined culture medium. J. Invest. Derm. 69: 244-248 (1977)

Dorn, M.: Zur Ätiologie der Pityriasis versicolor. Hautarzt 28, Suppl. 2: 178-179 (1979)

Dorn, M.: Zur Therapie der Pityriasis versicolor. Hautarzt 32, Suppl. 5: 443-444 (1981)

Dorn, M.: Ketoconazol-Therapie der Pityriasis versicolor. In: Chemotherapie von Oberflächen-, Organ- und Systemmykosen. (Hrsg.: H.P.R. Seeliger, H. Hauck). S. 75-79. Perimed Verl.: Erlangen 1982

Eichstedt, E.: Pilzbildung in der Pityriasis versicolor. Neue Notizen aus dem Gebiet der Natur- und Heilkunde. II: 270-272 (1846)

Findlay, G. H.: Superficial fungous infections In: Dermatology in General Medicine (Hrsg.: T.B. Fitzpatrick, A.Z. Eisen, K. Wolff, I.M. Freedberg, K.F. Austen). 2. Aufl. S. 1509-1532. McGraw-Hill: New York 1979

Fleming, W. A.: Dermatophyte isolations in Northern Ireland 1967-1973. Ulster Med. J. 44: 44-47 (1975)

Florian, E.: Gombas betegsegek felismerese es kezelese
(Hrsg.: Medicina Könyvkiado Budapest 1975)

Galgoczy, J.: Börgombak, börgombas betegsegek (Hrsg.:
Medicina Könyvkiado Budapest 1969)

Gedek, B.: Kompendium der medizinischen Mykologie.
S. 182-195. Parey Verl.: Berlin, Hamburg 1980

Götz, H.: Pityriasis versicolor. In: Die Pilz-
krankheiten der Haut durch Dermatophyten.
Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten
(Hrsg.: A. Marchionini, H. Götz). Erg. Bd. IV/3.
S. 352-360. Springer Verl.: Heidelberg 1962

Gordon, M. A., Lipophilic yeastlike organisms
associated with tinea versicolor. J. Invest.
Derm. 17: 267-272 (1951)

Gordon, R. E.: A species definition. Int. J. Syst.
Bacteriol. 28: 605-607 (1978)

Gudden, B. von: Beiträge zur Lehre von den durch
Parasiten bedingten Hautkrankheiten. II. Pityriasis
versicolor. Arch. Physiol. Heilk. 12: 496-505 (1853)

Keddie, F. M.: Tinea versicolor, 1846-1900.
A historical survey based on selections from the
writings of the nineteenth century. In: The Diagnosis
and Treatment of Fungal Infections (Hrsg.: H. M.
Robinson jr.) S. 169-184. C.C. Thomas: Springfield

Keining, E., Braun-Falco, O.: Dermatologie und Venerologie, 2. Aufl. S. 236-239. J.F. Lehmanns Verl.: München 1969

Male, O.: Medizinische Mykologie für die Praxis. S. 61-64. S. 195. Thieme Verl.: Stuttgart, New York 1981

Marples, M. J.: The genus *Pityrosporum*. In: The Ecology of the Human Skin. S. 408-422. C.C. Thomas Publ.: Springfield 1965

Meinhof, W.: Dermatomykosen. In: Dermatologie in Praxis und Klinik (Hrsg.: G.W. Korting). Bd. 2. S. 19.1.-19.23. Thieme Verl.: Stuttgart, New York 1980

Noble, W. C., Microbiology of Human Skin. S. 3-65: S. 263-268. Lloyd-Duke: London 1981

Odds, F. C.: *Candida* and Candidosis. S. 8-48. Leicester Univ. Press: Leicester 1979

Plewig, G., Kligman, A. M.: Akne-Pathogenese. Morphologie, Therapie. S. 38-42. S. 221 Springer Verl.: New York, Heidelberg, Berlin 1978

Randjandiche M.: Polymorphisme de *Pityrosporum ovale* (Bizzozzero) Castellani & Chalmers in vivo et in vitro. Bull. Soc. Franc. Mycol. Med. 5: 79-83 (1976)

Roberts, S. O. B.: Pityriasis versicolor: A. clinical and mycological investigation: Brit. J. Derm. 81: 315-326 (1969)

Roberts, S. O. B.: Fungi and the skin. In: An Introduction to the Biology of the Skin (Hrsg.: R. H. Champion, T. Gillman, A.J. Rook, R.T. Sims). S. 206-221. Blackwell Scientific Publ.: Oxford, Edinburgh 1970

Roberts, S. O. B., MacKenzie, D. W. R.: Mycology. In: Textbook of Dermatology (Hrsg.: A. Rook, D.S. Wilkinson, F.J.G. Ebling). 3. Aufl. S. 767-868. Blackwell Scientific Publ.: Oxford, Edinburgh. London, Melbourne 1979

Salkin, I. F., Gordon, M. A.: Polymorphism of *Malassezia furfur*. Canad. J. Microbiol. 23: 471-475 (1977)

Seeliger, H. P. R., Heymer, T.: Diagnostik pathogener Pilze des Menschen und seiner Umwelt. S. 14-81. Thieme Verl.: Stuttgart, New York 1981

Sudarshan, V., Agarwal, S.: Dermatophytoses in Raipur (Madhya Pradesh). Indian J. Path. Microbiol. 19: 57-62 (1976)

Vanbreuseghem, R., Recacoechea, M., Melgar, B., Vargas, J.: Scalp ringworm in the region of Santa Cruz, Bolivia. Notes on some skin infections. Ann. Soc. Belge Med. Trop. 60: 69-76 (1980)

Lebenslauf

Am 12.12.1950 wurde ich, Imre Laszlo Mohos, als drittes Kind meiner Eltern Istvan Mohos, verstorben 1971, letzter Beruf technischer Referent, und Maria Mohos, geb. Takacs, Lehrerin, in Keszthely / Ungarn geboren.

Von 1957 bis 1961 absolvierte ich in Keszthely die Volksschule und das Gymnasium, wo ich 1969 die Reifeprüfung ablegte.

1971 nutzte ich die Gelegenheit einer Gruppenreise nach Westdeutschland um hierzubleiben. 1980 habe ich die deutsche Staatsangehörigkeit durch Einbürgerung erhalten.

1972-1973 besuchte ich das Studienkolleg in München.

Im Sommersemester 1973 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Ludwig Maximilians Universität in München und bestand hier 1975 das Physikum, 1979 das Staatsexamen.

1979-1981 absolvierte ich in verschiedenen Zahnarztpraxen meine Assistentenzeit. Am 1.5.1981 habe ich mich in Nagold als Zahnarzt niedergelassen.

Seit 1977 bin ich mit Margaret Mohos, geb. Molloy verheiratet. Wir haben drei Söhne, 1, 3 und 8 Jahre alt.

